STANFORD UNIVERSITY LIBRARY
JUN 27 15

Aus der allgemeinen Poliklinik
(Direktor: Prof. Dr. med. **Fritz Egger**.)

Experimenteller Beitrag zur Acetonitrilreaktion.

Versuche über die Resistenzerhöhung gegenüber Acetonitril bei Mäusen, durch Fütterung verschiedener Thyreoidsubstanzen.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen medizinischen Fakultät

der

Universität Basel

vorgelegt von

WARTAN AXENTJAN
(aus **Armawir** Kaukasus).

BASEL
Buchdruckerei Brin & Cie., Spalenvorstadt 9
1914.

Von der medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von *Professor Dr. F. Egger.*

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit
gewidmet.

Im Jahre 1910 stellte *R. Hunt* Versuche an, um zu erfahren, ob durch Fütterung mit einem synthetisch hergestellten Schilddrüsenpräparat — Thyradenpulver — bei weissen Mäusen, Resistenzerhöhung gegenüber Acetonitril hervorzurufen ist.

Für seine Versuche ging *R. Hunt* von der Voraussetzung aus, dass die Schilddrüse giftzerstörende Funktionen beim Warmblüter besitzt.

Das Acetonitril (CH_3CN) oder Methylcyanid ist ein organischer, flüssiger, farbloser Körper, der durch das Zusammentreten von Jodmethyl (CH_3J) mit Cyankalium (KCN) in der Hitze erhalten wird.

$$CH_3J + KCN = CH_3CN + KJ)$$

Acetonitril

Dasselbe wird gewöhnlich mit destilliertem Wasser verdünnt in den Handel gebracht. Die wässrige Lösung von Acetonitril ist für lebende Organismen sehr giftig; die tödliche Dosis ändert sich nach der Tierart, den verschiedenen Rassen.

Nach zahlreichen Versuchen stellte nun *R. Hunt* fest, dass die weissen Mäuse nach Verabreichung von 20 mg Schilddrüsensubstanz — Thyradenpulver — im Verlauf von 11 Tagen die zwanzigfache tödliche Dosis von Acetonitril überstehen können.

Betreffs der Frage, auf welche Weise die Resistenzerhöhung bei weissen Mäusen gegenüber Acetonitril zustande kommt, gingen die Ansichten der Autoren zuerst auseinander.

R. Hunt war zuerst der Meinung, dass die organischen und anorganischen Stoffe der Schilddrüse, besonders das Jod, wenn sie in einen lebenden Organismus gebracht werden, die Abspaltung der CH_3 Gruppe aus der Verbindung CH_3CN verhindern.

Kurz darauf stellte *Trendelenburg* neue Versuche an, um zu erforschen, ob das Jod wirklich in der Schutzwirkung eine entgiftende Eigenschaft besitzt?

Nach vielseitigen Untersuchungen kam *Trendelenburg* zu dem Schlusse, dass durch Fütterung der weissen Mäuse sogar mit jodreichem Schilddrüsenpräparat, wie z. B. das bekannte

Baumann'sche Jodothyrin, keine Resistenzerhöhung der Tiere gegenüber Acetonitril festzustellen ist, infolgedessen die langsame Abspaltung des CN aus der CH_3CN nicht vom Jod bedingt wird (wie *R. Hunt* der Meinung war), sondern von anderen, uns noch unbekannten Stoffen.

Durch die Untersuchungsergebnisse von *Trendelenburg* wurde auch die Ansicht von *R. Hunt* widerlegt.

Nachdem *Trendelenburg* seine Untersuchungsbefunde publiziert hatte, führte *R. Hunt* weitere Untersuchungen aus und stellte dabei fest, dass die langsame Abspaltung des CN aus der Verbindung CH_2CN nicht vom Jodgehalt der Schilddrüse bedingt wird, sondern von der an die Blausäure gebundenen Methylgruppe.

R. Hunt wies diese Tatsache dadurch nach, dass die acetonitrilfesten, mit Schilddrüsensubstanz genährten Mäuse gegen reine Blausäure die ursprüngliche Empfindlichkeit beibehalten hatten. Durch diese Tatsache wurde die Entstehung der Resistenzerhöhung bei mit Schilddrüsensubstanz genährten Mäusen gegenüber Acetonitril geklärt und zwar folgenderweise: eine in einen lebenden Organismus gebrachte Schilddrüse besitzt die Eigenschaft, den Abbau des Acetonitrils zu verzögern. Der verlangsamte Abbau des Acetonitrils bedingt selbstverständlich, dass die Blausäurekomponenten im Organismus langsamer frei werden, infolgedessen kann sich die Giftwirkung des Acetonitrils beziehungsweise der Blausäure nur schubweise entfalten.

Diese sogenannte Acetonitrilreaktion scheint nach der Arbeit von *R. Hunt* sehr empfindlich zu sein.

Die Ergebnisse von *R. Hunt* wurden kürzlich von *Trendelenburg* teilweise bestätigt.

Beide Autoren betrachten diese Reaktion als genügend genau und zuverlässig, um daraus eine biologische Methode zum Nachweis von Thyreoidsubstanzen auszuarbeiten.

Im Jahre 1911 hat nun *Ghedini* die früheren Untersuchungen kontrolliert und in einer Anzahl von Fällen die Reaktion mit dem Blute von Basedowkranken ausgeführt, bei welchen, wie allgemein angenommen wird, Veränderungen der Schilddrüsenfunktionen sicher bestehen.

Der Uebersichtlichkeit halber, möchte ich die Versuchsanordnung und die Resultate der Versuche von früheren Autoren schematisch erwähnen:

Autoren	Tierart	Gewicht	Nahrung	Vorbehandlung	Acetonitril	Resultate
R. Hunt	weisse Mäuse	14—16 gr	Hafer und Wasser	Thyradenpulver	0,25 mg pro gr Tier	deutliche Resistenzerhöhung
Trendelenburg	weisse Mäuse	13—18 gr	Brot und Wasser	Jodothyrin	0,80 mg per gr Tier	keine Resistenzerhöhung
Ghedini	weisse Mäuse	14—20 gr	Brot und Wasser	Basedowblut	4,5—5,5 mg per gr Tier	Resistenzerhöhung

Aus dem oben angegebenen Schema sehen wir, dass alle Autoren dieselben Mäusearten, aber nicht denselben Ernährungsmodus benutzt haben, wie ursprünglich von *R. Hunt* angegeben wurde.

Ausserdem sehen wir aus dem Schema, dass die Widerstandsfähigkeit der weissen Mäuse gegenüber Acetonitril in verschiedenen Ländern verschieden ist.

Diese Variationen in der Widerstandsfähigkeit der Mäuse gegenüber Acetonitril sehen wir noch deutlicher, wenn wir die von früheren Autoren und von mir angegebene Maximaldosis von Acetonitril gesondert zusammenstellen:

I. Maximaldosis von Acetonitril betrug bei *R. Hunt*
0,25 mg per gr Tier . . . . in Amerika;
II. Maximaldosis von Acetonitril betrug bei *Tendelenburg*
0,80 mg per gr Tier . . . . in Deutschland;
III. Maximaldosis von Acetonitril betrug bei *Ghedini*
4,5—5,5 mg per gr Tier . . . in Oesterreich;

IV. Maximaldosis von Acetonitril betrug *bei mir*
5.5—6 mg per gr Tier . . . in der Schweiz.

Die Entstehung dieser Variationen in der Widerstandsfähigkeit der Tiere gegenüber Acetonitril ist vielleicht durch folgende drei Möglichkeiten zu erklären:

Erstens, können die klimatischen Verhältnisse von Einfluss sein, wie *R. Hunt* bereits hervorgehoben hat.

Zweitens, scheint mir die Pflege bei Mäusen von Bedeutung für das Vorkommen der Schwankungen in der Widerstandsfähigkeit der Mäuse gegenüber Acetonitril. Werden, z. B., die Mäuse in feuchten Geschirren oder an feuchten Orten gehalten, so unterliegen dieselben bei viel kleineren Dosen wie sonst.

Drittens, endlich ist die gleichartige Ernährung von wesentlicher Bedeutung für Genauigkeit der Reaktion auf Acetonitril.

Ich habe einige Versuchsreihen mit verschiedenem Futter angestellt und dabei das schon von *R. Hunt* angegebene Resultat gefunden, nämlich, dass jede Aenderung der Nahrung die Resistenz der Versuchstiere gegenüber Acetonitril ganz bedeutend beeinflussen kann. Die mit Milch und Brot gefütterten Mäuse erwiesen sich mir empfindlicher als die mit Brot gefütterten.

Da meine Ergebnisse in dieser Beziehung genau mit derjenigen *R. Hunt's* übereinstimmen, habe ich dieselben in folgendem nicht ausführlich beschrieben.

Entgegen den Ansichten, der bisher genannten Autoren kommt *Lussky* auf Grund seiner Versuche zu dem Resultate, dass der Acetonitrilprobe keine Spezifität für den Nachweis der Schilddrüsensubstanz zukommt.

Aus dem gesagten können wir schliessen, dass die Spezifität der Acetonitrilprobe für den Nachweis der Thyreodsubstanzen noch keineswegs sichergestellt ist.

So viel über die früheren Untersuchungen bezüglich der Acetonitrilreaktion.

Meine Untersuchungen bezwecken vor allem einen Beitrag zur Lösung der folgenden Fragen zu liefern:

1. Ist die R. Hunt'sche Acetonitrilreaktion spezifisch für Schilddrüsen oder vermögen noch andere Drüsen mit

innerer Sekretion die Resistenz des Organismus zu beeinflussen.

2. Es erschien mir von besonderem Interesse zu prüfen, ob Schilddrüsenpressaft, aus der Schilddrüse des Menschen genommen, die R. Hunt'sche Reaktion ebenfalls zu erzeugen imstande ist.

Ein positives Resultat könnte praktisch von Bedeutung sein. Man kann sich nämlich vorstellen, dass in ihren Funktionen anormale Schilddrüsen, je nach der Störung (Hypo- oder Hyperfunktion) die Resistenz gegenüber Acetonitril verschieden beeinflussen. Diese Reaktion liesse sich dann für praktische Zwecke zur Differentialdiagnose der verschiedenen Thyreoidstörungen herbeiziehen.

Ich habe nun Versuche mit verschiedenen Thyreoidpräparaten angestellt und diese Versuche dienen zum Teil als Kontrolle der von früheren Autoren erhaltenen Resultate, zum Teil als Vergleichsmaterial zur Verwertung der mit Schilddrüsenpressaft gewonnenen Ergebnisse.

Vor der Besprechung der Resultate meiner Untersuchungen, möchte ich zuerst die Herstellung des Pressaftes, dann die Feststellung der Dosis letalis von Acetonitril erwähnen.

Herstellung des Schilddrüsenpressaftes.

Ich habe den Schilddrüsenpressaft aus der menschlichen Schilddrüse genommen, und zwar nach der von *Abderhalden* für seine Fermentreaktion angegebenen („optische Methode") Darstellungsweise.

Die normalen menschlichen Schilddrüsen wurden vom Pathologischen Institut*) geholt und sofort in kleine Stückchen zerschnitten und so rasch wie möglich unter fliessendem Wasser ganz blutfrei gewaschen. Die einzelnen Stückchen wurden zwischen Filtrierpapier abgepresst, dann gewogen und in 70 %ige H_2SO_4 eingetragen.

*) Die Schilddrüsenpräparate wurden mir von Prof. Hedinger zur Verfügung gestellt, wofür ich meinen besten Dank ausspreche.

Von der letzteren wurde ca. die fünffache Gewichtsmenge des angewandten Organes genommen. Das Gemisch wurde unter wiederholtem Umschütteln 3 Tage lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

Nach 3tägigem Stehen wurde die Mischung in Eiswasser gestellt, verdünnt unter Rühren mit zehnfachem Volumen destillierten Wassers und nun rasch die H_2SO_4 durch Zusatz von Baryt neutralisiert.

Die Menge, die notwendig war, um die H_2SO_4 ganz zu neutralisieren, wurde aus der angewandten Menge von H_2SO_4 annähernd berechnet.

Ich habe dabei nur fein pulverisierten Baryt gebraucht, da der Baryt des Handels nie rein ist (enthält meistens etwas kohlensaures Baryt). Nach Zusatz von pulverisiertem Baryt wurde die Lösung so lange stehen gelassen, bis sich der Niederschlag vollständig abgesetzt hat.

Während des Barytzusatzes wurde wiederholt die Reaktion der Lösung mit Lackmuspapier geprüft. Die H_2SO_4-freie Lösung soll neutrale Reaktion geben.

Nachdem die Reaktion der Lösung neutral war, wurde sie abfiltriert. Da aber das erste Filtrat meistens trüb war, so musste dasselbe so lange abfiltriert werden bis das nächst abfliessende Filtrat vollständig klar geworden ist. Der Baryumsulfatniederschlag wurde mit viel kaltem Wasser gewaschen.

Dann wurden die gesamten Filtrate mit Waschwasser von Baryumsulfatniederschlag vereinigt und nach erfolgter Mischung in Proben auf H_2SO_4 resp. auf Baryt geprüft.

War das Filtrat frei von beiden d. h. gab weder Zusatz von Baryt noch von H_2SO_4 eine Trübung, dann wurde die Flüssigkeit unter vermindertem Druck bei 40—50 % des Wasserbades zur Trockene verdampft.

Es verbleibt schliesslich eine dicke, sirupartige, gelbliche Masse.

Von dieser Substanz wurde dann eine Lösung hergestellt, indem zu 750 mg Substanz 30 cm^3 destilliertes Wasser zugesetzt wurde.

Auf diese Weise erhielt ich eine 25 %ige Pressaftlösung.

Feststellung der Dosis letalis von Acetonitril.

Vor der Anstellung der Hauptversuche, stellte ich zuerst die Maximaldosis von Acetonitril bei nicht vorbehandelten Mäusen fest.

Ich habe diese Maximaldosis auf zweierlei Weise bestimmt. Man kann nämlich diejenige Giftmenge feststellen, welche bei einmaliger Applikation in mehr oder weniger kurzer Zeit zum Tode führt. Man kann auch diejenige Acetonitrilmenge bestimmen, welche bei wiederholten täglichen, kleinen Injektionen nach einer Anzahl von Tagen die Mäuse tötet.

Als Maximaldosis habe ich diejenige Acetonitrilmenge gewählt, welche nötig war, um eine nicht vorbehandelte Maus relativ schnell (innerhalb 2—3 Stunden) zu töten. Ich habe zu wiederholten Malen die Dosis letalis bei dem von mir gebrauchten Tiermaterial kontrolliert, und stets die gleichen Werte erhalten.

Diese Menge betrug 5,5—6 mg pro Gramm Tier.

Die Injektion des Acetonitrils, das jedesmal kurz vorher in dest. Wasser frisch gelöst wurde, erfolgte unter die Rückenhaut.

Ich habe bereits oben erwähnt, dass die anderen Autoren eine andere Max. Dosis erhielten. Ohne auf die Ursache dieses eigentümlichen Verhaltens der Tiere in den Händen der Experimentatoren näher einzugehen, sei hier hervorgehoben, dass zu verschiedenen Zeiten während der ganzen Dauer meiner Untersuchungen die Dosis letalis für mein Tiermaterial bestimmt und dabei stets die gleichen Zahlen von 5—6 mg pro Gramm Tier erhalten wurden.

Aus diesem Resultate scheint herzugehen, dass die von mir gebrauchten Mäuse eine grössere Widerstandsfähigkeit gegenüber Acetonitril besitzen als die Tiere, welche z. B. *R. Hunt* zur Verfügung standen.

Man wird mit Sicherheit eine durch Thyreoidpräparate evtl. bedingte Erhöhung der Resistenzfähigkeit annehmen können, wenn bei meinen Versuchen, die vorbehandelten Tiere eine grössere Dosis als 6 mg pro Gramm Tier Acetonitril wiederholt vertragen.

Die Differenz in der Höhe der Maximaldosis bei verschiedenen Autoren findet zum grossen Teil ihre Erklärung darin, dass die verschiedenen Forscher verschiedene Bedingungen in ihren Versuchen aufgestellt haben.

Ghedini wählt z. B. diejenige Acetonitrilmenge als Maximaldosis, welche innerhalb 3 Stunden tödlich wirkt.

Ich könnte aus der mir zur Verfügung stehenden Literatur nicht sehen, ob *R. Hunt* andere Bedingungen aufstellte.

Hat er z. B. diejenige Giftmenge, welche nach mehr als 3 Stunden tödlich wirken kann, als Dosis letalis gewählt, so kann dieser Umstand die geringe Zahl für seine Dosis letalis erklären.

Ich habe z. B. gefunden, dass nach einer Dosis von 4—5 mg pro Gramm Tier die Mäuse 4—5 Stunden nach der Injektion sterben, niemals aber im Lauf der ersten 3 Stunden.

Ich glaube, dass die von *Ghedini* und von mir gewählten Bedingungen insofern günstiger sind als bei denselben die Schwankungen in der Maximaldosis auffallend gering sind.

Endlich mag noch folgender Umstand erwähnt werden. Durch Injektion kleiner, nicht tödlicher Mengen von Acetonitril wurde die Widerstandsfähigkeit der Tiere erhöht. Spritzt man z. B. einer Maus einige Tage hindurch täglich 1,0 cm^3 von 2 %iger Acetonitrillösung (d. h. *20 mg* Gift) ein, so kann das Tier erst bei einer Dosis von *10—12 mg* pro Gramm Tier getötet werden. Auf diese Weise gelang ich zur Bestimmung der grössten Acetonitrilmenge, welche von meinen Versuchstieren, ohne zugrunde zu gehen, vertragen werden konnte. Diese grösste Menge, wie wir später sehen werden, betrug *220 mg* Gift d. h. 10—12 mg Gift pro Gramm Tier.

Versuchsanordnung.

1. Für alle Versuche verwendete ich weisse Mäuse. Das Gewicht derselben schwankte zwischen 13—25 Gramm.
2. Für jeden Versuch wurden 3—4 Mäuse genommen.
3. Jeder Versuch wurde in 3 Perioden eingeteilt:
   a) Eine Vorperiode, während welcher die Mäuse ausschliesslich mit Brot und Wasser gefüttert wurden.
   b) Darauf folgte eine mehrtägige Periode, bei welcher die Tiere neben ihrer Brot-Wasser-Nahrung, Thyreoidpräparate verschiedener Herkunft injiziert oder per os erhielten.
   c) Endlich schloss sich daran die Hauptperiode, wo den Tieren das Acetonitril in verschiedener Menge eingespritzt wurde.

4. Die Mäuse wurden regelmässig gewogen, um die Aenderung des Gewichtes im Verlauf der Vorbehandlung oder während der Acetonitrilinjektionen feststellen zu können.

5. Zur Einspritzung habe ich das von der Firma „*Kahlbaum*“ bezogene Acetonitril gebraucht. Für meine Versuche stellte ich jedesmal frische 2%ige Acetonitrillösung, her. Zur Prüfung der Wirkung der verschiedenen Thyreoidpräparate und des Thyreoidpressaftes bin ich folgendermassen vorgegangen:

Die vorbehandelten Tiere erhielten einige Tage lang Acetonitrilinjektionen und zwar mit steigender Menge an Giftstoff.

Ich spritzte gewöhnlich bei der ersten Injektion 20 mg-Gift ein und steigerte allmählich bis auf 90 mg.

Dabei habe ich, wie aus der Tabelle ersichtlich, zum Vergleiche den Kontrolltieren (mit Schilddrüsensubstanz nicht gefütterten Tieren) die gleichen Dosen von Acetonitril eingespritzt und zwar in der gleichen Weise, wie bei den vorbehandelten Tieren. Ich hoffte auf diese Weise die Wirkung der Schilddrüsensubstanzen deutlicher zum Vorschein zu bringen als durch Vergleich der von den vorbehandelten Tiere überstandenen Acetonitrilmenge mit der Dosis letalis.

6. Im Verlauf der Vorbehandlung wurde den Tieren das Blut entnommen und mikroskopisch untersucht.

7. Jeder Versuch wurde von mir einige Male wiederholt.

8. Die Resultate der Versuche habe ich in folgenden Tabellen zusammengestellt. In den Tahellen wurde der Kürze halber nur 1 Versuchsreihe jedesmal angeführt. Bei den Versuchen mit Schilddrüsenpressaft und Glandula Thyreoidea habe ich eine grosse Anzahl von Reihen gemacht, während bei den Versuchen mit den übrigen Präparaten nur 2—3 Reihen ausgeführt wurden.

Im ganzen habe ich 140 Mäuse verwendet. Die hier nicht erwähnten Versuchsreihen fielen genau so aus wie diejenigen, welche ausführlich publiziert sind.

I. Versuche mit Glandula thyreoidea.*)

Die Versuche mit dieser Thyreoidsubstanz wurden bei ca. 40—50 Mäusen gemacht. Jede Maus wurde 9 Tage hindurch

*) Das Präparat war dasjenige von der Firma *Burroughs-Wellcome.*

täglich mit 20 mg Thyreoidsubstanz gefüttert. Die gewöhnlichen Pastillen des Handels wurden pulverisiert und mit weichem (frischem) Brot vermischt, davon Brotkügelchen gemacht und als solche dargereicht.

Die gewünschte Menge von Thyreoidsubstanz wurde von meinen Tieren stets gefressen.

Nach der Behandlung mit dem Thyreoidpräparat, wurde den Mäusen Acetonitril 5 Tage lang eingespritzt und zwar in der in der Versuchsanordnung angegebenen Weise.

Die mit Glandula thyroidea gefütterten Mäuse erwiesen sich stets als Acetonitril fest, d. h. die mit Acetonitril behandelten Kontrolltiere starben früher als die in der zweiten Periode mit Thyreoidsubstanz gefütterten Mäuse. Dies geht aus der Tabelle deutlich genug hervor.

Die vorbehandelten Tiere erhielten sogar, wie die Tabelle zeigt, 16 mg. Gift pro Gramm Tier, d. h. fast das dreifache der gewöhnlichen Dosis letalis ohne zugrunde zu gehen.

Ich möchte hier erwähnen, dass bei meinen Tieren die Thyreoidfütterung keine sommatische Erscheinungen erzeugte, dagegen fiel es mir auf, dass sie nach Acetonitrilinjektionen, namentlich kurz vor dem Tode unruhig wurden, Krämpfe bekamen, die Augen traten auffallend hervor und schienen mir stärker injiziert zu sein als normal.

In der Zeit, wo die Mäuse mit Thyreoidsubstanz gefüttert wurden, wurde das Blut entnommen und mikroskopisch untersucht.

Die mikroskopische Untersuchung von Blutpräparat (Färbung nach May-Grunwald oder mit Triacid) hat eine deutliche Vermehrung der Leukozyten — Leukozythose — ergeben, die aber nach den Acetonitrilinjektionen allmählich verschwand.

Ich bemühte mich die Leukozythen zu zählen, es gelang mir aber nicht, da ich die zur Untersuchung nötige Blutmenge nicht entnehmen konnte.

Die meisten Mäuse haben während der Behandlung mit Thyreoidsubstanz etwas zugenommen.

Nach der Acetonitrilinjektion erfolgte dagegen eine Gewichtsabnahme.

Hauptversuch mit Glandula Thyreoidea.

Tier-Nummer	Gewicht	Glandula thyreoid.	Acetonitril	Ausgang
1	18	180 mg in 9 Tagen	20+40+60+80+90	Deutliche Resistenzerhöhung
2	18	180 mg in 9 Tagen	20+40+60+80+90	
3	17	180 mg in 9 Tagen	20+40+60+80+90	
4	16	180 mg in 9 Tagen	20+40×60+80+90 290 mg in 5 Tagen	

Kontrollversuch.

Tier-Nummer	Gewicht		Acetonitril	Ausgang
1	20	Keine Thyreoid-fütterung	20 mg.+40+60+80	Tod
2	16	Keine Thyreoid-fütterung	20+40+60+80	Tod

Es schi n mir von Interesse, die maximale Dosis von Glandula thyreoidea festzustellen. Die Maximaldosis von Glandula thyreoidea beträgt 220 mg, d. h. es ist das die grösste Menge, welche von Tieren, ohne zugrunde zu gehen, aufgenommen werden kann.

II. Versuch mit Thyreoidpressaft.

Jeder Maus wurde in gewöhnlicher Weise 4 Tage lang täglich 0,5 cm^3 von 2,5%iger Schilddrüsenpressaftlösung eingespritzt.

Im Ganzen wurde also 2 cm^3 0,5 gr Pressaftsubstanz verabreicht.

Nach der viertägigen Behandlung mit Thyreoidpressaft wurde den Tieren Acetonitril injiziert.

Wie die Tabelle I zeigt, haben die Mäuse mehr als die zweifache tödliche Dosis überstanden.

Da aber die Injektion von Acetonitril im Verlauf der längeren Zeit (14 Tage) stattfand, so konnte ich daraus keine absolut sichere Resistenzerhöhung feststellen.

Um die Resistenzerhöhung sicher nachzuweisen, versuchte ich grössere Acetonitrilmengen im Verlauf von wenigen Tagen einzuspritzen.

Wie die Tabelle II zeigt, haben die Tiere wiederum überstanden und zwar mehr als die dreifache tödliche Dosis.

Nach abermaligem Wiederholen der auf diese Weise von mir ausgeführten Versuche bestand gar kein Zweifel mehr in der Resistenzerhöhung der Tiere gegenüber Acetonitril.

Die mikroskopische Untersuchung des Blutes in gefärbten Präparaten während der Behandlung mit Pressaft zeigte genau so wie bei Gland. thyreoidea — deutliche Vermehrung der Leukozyten — Leukozytose, die aber nach den Acetonitrilinjektionen zum Unterschied von den vorigen noch teilweise bestehen blieb.

Was das Gewicht anbetrifft, so haben die Tiere während der Fütterung mit Pressaft ziemlich zugenommen. Die Abnahme an Gewicht im Verlauf der Acetonitrilinjektionen war gering.

Die Maximaldosis von Thyreoidpressaft betrug bei einmaliger Injektion 125 mg.

Hauptversuch mit Schilddrüsenpressaft.

Tabelle I.

Tier-Nummer	Gewicht	Thyreoidpressaft 2,5 %ige	Acetonitril 2 %ige	Ausgang
1	19	0,5 + 0,5 + 0,5 + 0,5	280 mg Gift in 14 Tagen	Scheinbare Resistenzerhöhung
2	17	0,5 + 0,5 + 0,5 + 0,5	280 mg Gift in 14 Tagen	
3	16	0,5 + 0,5 + 0,5 + 0,5 also 2 cm^3 = 50 mg	280 mg Gift in 14 Tagen täglich 280 mg	

Kontrollversuch.

Tier-Nummer	Gewicht		Acetonitril	Ausgang
2	17	Keine Pressaftfütterung	220 mg in 11 Tagen	Tod
2	17	Keine Pressaftfütterung	220 mg in 11 Tagen	Tod

Tabelle II.

Tier-Nummer	Gewicht	Thyreoidpressaft	Acetonitril	Ausgang
1	17	0,5+0,5+0,5+0,5	40+50+60+70+80	Deutliche Resistenzerhöhung
2	16	0,5+0,5+0,5+0,5	40+50+60+70+80	
3	13	0,5+0,5+0,5+0,5 also 2 cm^3 = 50 mg	40+50+60+70+80 also 300 mg Gift in 5 Tagen	

Kontrollversuch.

Tier Nummer	Gewicht		Acetonitril	Ausgang
1	19	Keine Pressaft-fütterung	40+50+60+70	Tod
2	18	Keine Pressaft-fütterung	40+50+60+70 220 mg	Tod

III. Versuch mit Thyreoglandol.

Das Thyreoglandol wird von der Firma „Hoffmann la Roche“ hergestellt und wurde uns in Ampullen geliefert. Eine Ampulle

enthält 1,1 cm³ Flüssigkeit, welche für zwei Injektionen reicht.

Jede Maus erhielt vier Tage lang 0,5 cm³ Thyreoglandol. Nach erfolgter Injektion mit Thyreoglandol wurde jeder Maus wiederum Acetonitril in grösseren Mengen eingespritzt.

Die Versuche haben, wie aus der Tabelle zu sehen ist, eine deutliche Erhöhung der Wiederstandsfähigkeit gegenüber Acetonitril ergeben.

Die mikroskopische Untersuchung des Blutes ergab keine deutliche Vermehrung der Leukozythen.

Sowohl die Gewichtszunahme während der Behandlung mit Thyreoglandol als auch die Abnahme nach den Acetonitrilinjektionen war gering.

Hauptversuch mit Thyreoglandol*)

Tier-Nummer	Gewicht	Thyreoglandol	Acetonitril	Ausgang
1	17	0,5+0,5+0,5+0,5	40+60+80+90	Deutliche Resistenzerhöhung
2	18	0,5+0,5+0,5+0,5	40+60+80+90	
3	16	0,5+0,5+0,5+0,5 2 cm³	40+60+80+90 270 mg in 4 Tagen	

Kontrollversuch.

Tier-Nummer	Gewicht		Acetonitril	Ausgang
1	15	Keine Thyreoglandol-fütterung	40+60+80	Tod in 24 Stund.
2	19	Keine Thyreoglandol-fütterung	40+60+80	Tod in 30 Stund.

*) Dasselbe wurde von Guggenheim in physiologischen Laboratorium von der Firma Hoffmann-La Roche hergestellt.

IV. Versuche mit Dijodoxphenyläthylamin.

Dijodoxyphenyläthylamin ist ein von der Firma „Hoffmann-La Roche“ hergestelltes jodhaltiges Präparat.

Die Versuche mit demselben haben, wie aus der Tabelle zu sehen ist, keine Erhöhung der Resistenz bei Mäusen gegenüber Acetonitril ergeben.

Die mikroskopische Untersuchung des Blutes zeigte nichts besonderes. Die Aenderung des Gewichtes war minimal.

Meine Versuchsergebnisse mit dem genannten jodhaltigen Präparat stimmen mit den Untersuchungsbefunden von *Trendlenburg* mit Jodothyrin überein. Das Jod scheint mir nach dem von mir gewählten Präparat unwirksam zu sein.

Hauptversuch mit Dijodoxyphenyläthylamin.

Tier-Nummer	Gewicht	Dijodoxy-phenyläthylamin	Acetonitril	Ausgang
1	14	0,5+0,5+0,5+0,5	220 mg Gift in 11 Tagen	Tod in kurzer Zeit
2	17	0,5+0,5+0,5+0,5	220 mg Gift in 11 Tagen	
3	20	0,5+0,5+0,5+0,5 2 cm³	220 mg Gift in 11 Tagen	Tod ca. 30 Stund. n. der letzt. Injekt.

Kontrollversuch.

Tier-Nummer	Gewicht		Acetonitril	Ausgang
1	18	Keine Dijodoxypheny-läthylamin-Fütterung	220 mg Gift in 11 Tagen	Tod
2	19	Keine Dijodoxypheny-läthylamin-Fütterung	220 mg Gift in 12 Tagen	Tod

V. Versuche mit Adrenalin (1%ige Lösung).

Die Versuche mit Adrenalin, wie wieder aus der Tabelle zu sehen ist, haben keine Resistenzerhöhung der Tiere gegenüber Acetonitril ergeben.

Ich führte die Versuche mit Adrenalin nach dem von *Ghedini* angegebenen Schema aus, sodass meine Ergebnisse mit denjenigen von *Ghedini* übereinstimmen.

Die mikroskopische Untersuchung des Blutes in gefärbten Präparaten ergab eine deutliche Vermehrung der eosinophilen Zellen — Eosinophilie.

Sowohl während der Behandlung mit Adrenalin als auch in Verlauf der Acetonitrilinjektionen nahmen die Tiere an Gewicht stark ab.

Hauptversuch mit Adrenalin.

Tier-Nummer	Gewicht	Adrenalin 1%ige Lösung	Acetonitril 2%ige Lösung	Ausgang
1	16	3½ cm^3 der Lösung in 7 Tagen	5½ mm^3 p. G. T.	Tod innerhalb 24 Stunden
2	14	3½ cm^3 der Lösung in 7 Tagen	5½ mm^3 p. G. T.	
3	15	3½ cm^3 der Lösung in 7 Tagen	5½ mm^3 p. G. T.	

Keine Hyperresistenz gegen Acetonitril.

Besprechung der Resultate.

Wie aus den Versuchsreihen mit Fütterung von Glandula thyreoidea hervorgeht, stimmen meine Resultate mit denjenigen von *R. Hunt, Ghedini* und *Trendelenburg* überein.

Da das Adrenalin sowohl in den Untersuchungen von *Ghedini* als in meinen eigenen Versuchen eine Resistenzerhöhung gegenüber Acetonitril niemals erzeugte, so lässt sich mit grosser Wahrscheinlichkeit der Schluss ziehen, dass diese Acetonitrilreaktion nur eine für die innere Sekretion der Schilddrüse spezifische Reaktion darstellt.

Zur Verwertung dieser Reaktion müssen allerdings eine Anzahl von Versuchsmassregeln getroffen werden, was darauf hindeutet, dass dieselbe von anderen Faktoren merklich beeinflusst werden kann.

Von grösserem Interesse erscheint es mir, hier hervorzuheben, dass die Nahrungsweise die Resistenz der Tiere bedeutend beeinflusst. Dies geht aus dem Vergleich der Resultate der einzelnen Autoren und aus meinen eigenen, oben erwähnten Versuchen hervor.

Damit wird ein Kapitel der Ernährung gestreift, das bis jetzt in der Physiologie und in der Klinik fast gar nicht beachtet wurde.

Man hat noch nicht gelernt, die einzelnen Nahrungsstoffe oder die verschiedenen Nahrungsmittel als Schutzmittel gegen Intoxikationen oder Krankheiten verschiedener Art zu gebrauchen.

Es wird sehr viel von den schädlichen Wirkungen der Harnsäure, der Abbauprodukte der Eiweisstoffe oder des Fleisches geredet. Man übersieht dabei, dass diese Substanzen gegen zahlreiche Infektionen dem Organismus vielleicht sehr wirksame Schutzmittel bieten können.

In meinen Untersuchungen konnte ich feststellen, dass Tiere, welche mit Brot und Milch gefüttert wurden, bedeutend weniger widerstandsfähig waren, als Mäuse, welche nur Brot und Wasser erhielten. Ueber die Beeinflussung der Acetonitrilreaktion durch Ernährung konnte ich leider keine weiteren Untersuchungen anstellen.

Es ist selbstverständlich, dass zur Bestimmung des Einflusses gewisser Schilddrüsenpräparate auf die Acetonitrilfestigkeit der Mäuse stets Kontrolltiere herangezogen werden. Dies habe ich in meinen sämtlichen Versuchen getan.

Von den zwei Präparaten*), die uns von der Firma „Hoffmann la Roche“ zur Verfügung gestellt wurden, erwies sich das eine (Thyreoglandol) als recht wirksam, das andere (Dijodoxyphenyläthyphylamin) war ohne Einfluss.

Das Thyreoglandol soll ein eiweissfreies Dialysatpräparat der Schilddrüse sein.

*) Thyreoglandol und Dijodoxyphenyläthylamin.

Das Dijodoxyphenyläthylamin ist ein von Guggenheim synthetisch hergestelltes jodhaltiges Präparat. In dieser letzten Form scheint also das Jod keine Wirkung auszuüben.

Nach *Trendelenburg* hat das Jodothyrin von Baumann merkwürdigerweise keinen Einfluss auf die Wiederstandsfähigkeit der Mäuse gegenüber Acetonitril.

Besonders interessant erscheinen uns die Ergebnisse mit Schilddrüsenpressaft. Derselbe erwies sich in Injektionen mindestens ebenso wirksam, wie die Schilddrüsensubstanz (z. B. Glandula thyreoidea) per os gefüttert.

Wäre die Darstellung des Pressaftes nicht so umständlich, so hätten wir darin sehr wahrscheinlich eine bequeme Methode zur Prüfung der Schilddrüsenfunktion.

Drüsen mit Hypofunktion werden voraussichtlich einen Saft produzieren, der die Resistenz der Mäuse gegenüber Acetonitril nicht merklich erhöht. Das umgekehrte wäre zu erwarten von Schilddrüsen in Hyperfunktion, z. B. Basedowstruma.

Mit dieser Vermutung stimmt überein, dass *Ghedini* mit Injektionen von Serum Basedowkranker eine vermehrte Resistenz der Tiere erreicht hat.

Die Tiere, die ich mit Gland. thyreoida fütterte und diejenigen, welche mit Pressaft behandelt wurden, zeigten eine deutliche, wenn auch geringe, Gewichtszunahme.

Nach unseren Erfahrungen aus der Menschenpathologie hätten wir das umgekehrte erwarten sollen. Es ist möglich, dass hier gewisse, uns noch unbekannte Nebenumstände eine Rolle gespielt haben.

Immerhin ist das auffallend, dass die mit Thyreoglandol und Dijod-oxyphenyläthylamin behandelten Tiere keine Gewichtszunahme erwiesen.

Zum Schlusse sei noch folgendes erwähnt:

Es ist in der letzten Zeit eine grosse Anzahl von Publikationen erschienen, welche die Verwertung der Fermentreaktion Abderhaldens einer scharfen Kritik unterzogen haben. Einige Forscher wollen dieser Reaktion jede Organspezifität absprechen *(Michaelis)*.

Meine Untersuchungen liefern einen kleinen Beitrag zu dieser Frage.

Nach meinen Untersuchungen besitzt der Schilddrüsenpresssaft, wie er nach der Abderhaldens Methode dargestellt wird, gewisse spezifische Eigenschaften.

Dieses Ergebnis erscheint uns um so beachtenswerter, als es mit einer Versuchsanordnung gewonnen wurde, welche zu diesem Zwecke, so weit mir die Literatur bekannt ist, bisher noch nicht gewählt wurde.

Es bleibt mir noch die angenehme Pficht, Herrn *Prof. Dr. Egger* für die gütige Überlassung des Materials und für sein stetes Interesse meinen besten Dank auszusprechen.

Ebenso möchte ich Privat-Doz. *Dr. A. Gigon* für die Anregung zu dieser Arbeit und seine Unterstützung herzlich danken.

Literaturverzeichnis.

1. **R. Hunt** und **Trendelenburg**. Über den Nachweis toxischer Stoffe im Blute thyreoidektomierter Tiere. Biochemische Zeitschrift, 1910, Heft XI., 396—407.

2. **Lussky**. Zentralblatt für die gesammte innere Medizin. 1912.

3. **Abderhalden**. Die optische Methode und das Dialysierverfahren als Methode zum Studium von Abwehrmassregeln des tierischen Organismus. Biochemische Arbeitsmethoden. Bd. VI. 224–226 S.

4. **Ghedini**. Experimenteller und klinischer Beitrag zur Acetonitnereaktion mit besonderer Berücksichtigung der Differentialdiagnose bei Morbus Basedon, Wiener klinische Wochenschrift, 1911, 25. V., 736—744.